

Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.
7. Jg., S. 160—161, März 1969

Untersuchungen der Fructose-Phosphat-Aldolase¹⁾ bei experimenteller Leberschädigung an Ratten

I. Leberschädigung mit 4-Dimethylaminoazobenzol

Von A. L. DIKOW und D. C. HADJIOLOV

Aus der Biochemischen Abteilung und der Abteilung für Experimentalkarzinogenese des Onkologischen Forschungsinstituts
(Direktor: Prof. Dr. N. Antschev) Sofia/Bulgarien

(Eingegangen am 22. November 1968)

In der vorliegenden Arbeit wird die Gesamtaktivität und das Isoenzymmuster der Serumaldolase von Ratten, die mit 4-Dimethylaminoazobenzol gefüttert wurden, untersucht. Dabei zeigte sich, daß die Gesamt-Aldolaseaktivität auf das Doppelte ansteigt und von Veränderungen im Isoenzymspektrum begleitet ist. Dies äußert sich hauptsächlich durch einen Anstieg der Intensität einzelner Isoenzymfraktionen, die vom Typ der Leber-, „B“-Aldolase sind. Die Erhöhung der Serumaldolase wird mit der toxischen Schädigung des Leberparenchyms durch den Azofarbstoff begründet.

Studies on fructose phosphate aldolase during experimental liver damage in rats

The total activity and isoenzyme pattern of rat serum aldolase were studied after feeding 4-dimethyl-aminoazobenzene. The total aldolase activity was doubled and the isoenzyme pattern was changed. This is chiefly due to an increase in the intensity of individual isoenzyme fractions, which correspond to the „B“ aldolase of liver. The increase of serum aldolase is the result of toxic damage to the liver parenchyma by the azo dye.

In den Frühstadien der chemischen Kanzerogenese der Leber werden mehr oder weniger manifestierte degenerative Veränderungen entdeckt, die aus der chronischen Toxizität des karzinogenen Stoffes resultieren. In den ersten Tagen nach Behandeln mit 4-Dimethylaminoazobenzol treten diese Veränderungen nicht deutlich hervor (1). Später jedoch zeigen histo- und biochemische Untersuchungen eine verminderte Aktivität der Succinatdehydrogenase¹⁾ (2, 3) und der Glucose-6-phosphatase¹⁾ (4). Die Interpretation dieser Veränderungen wird von der rapiden Entwicklung einer regenerativen Proliferation in der Leber erschwert. Deshalb ist es für die Bestimmung der chronischen Toxizität der Hepatokanzerogene von großem Interesse, die am frühesten auftretenden Veränderungen in den verschiedenen Geweberegionen nachzuweisen. In der vorliegenden Arbeit wurde daher die Gesamtaktivität und das Isoenzymmuster der Fructose-Phosphat-Aldolase im Serum von Ratten untersucht, die mit 4-Dimethylaminoazobenzol gefüttert wurden.

Material und Methoden

Die Versuche wurden an Albinoratten von 140—160 g Gewicht durchgeführt. Den Versuchstieren wurde eiweißarmes Futter mit 0,15% 4-Dimethylaminoazobenzol verabreicht. Die Kontrolltiere wurden mit derselben Diät, nur ohne Kanzerogen gefüttert. Am 30. Tage nach Versuchsbeginn wurden die Tiere durch die *A. femoralis* entblutet. Es wurde die Gesamtaktivität der Aldolase des Blutserums nach dem „Aldolase UV Test“ Fa. Boehringer,

Mannheim bestimmt. Das Isoenzymmuster der Aldolase wurde nach elektrophoretischer Trennung nach dem früher beschriebenen Verfahren (5) bestimmt.

Ergebnisse und Diskussion

Die Gesamt-Aldolaseaktivität im Serum der Kontrollratten (10 Tiere) war durchschnittlich 40,86 mU/ml und bei den Versuchstieren (10 Tiere) 77,18 mU/ml. Dieser Anstieg der Aldolaseaktivität im Serum auf fast das Doppelte verläuft parallel mit den Veränderungen, die im Isoenzymmuster auftreten.

Bei den Kontrolltieren besteht das Isoenzymmuster der Aldolase aus 6 Fraktionen. Zwei von ihnen liegen kathodisch von der Startlinie und vier anodisch (Abb. 1a). Bei den Versuchstieren (Abb. 1b, c und d) steigt die Intensität der zwei kathodischen und zwei der

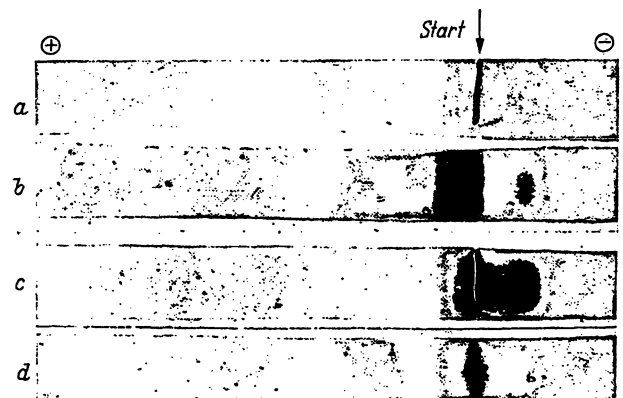


Abb. 1
Isoenzymmuster der Ratten-Serum-Aldolase
a) bei einem Kontrolltier
b)—d) bei mit 4-Dimethylaminoazobenzol gefütterten Versuchstieren

¹⁾ Fructose-Phosphat-Aldolase = Ketose-1-phosphat Aldehyd-lyase (EC 4.1.2.7) und Fructose-1,6-diphosphat D-Glycerinaldehyd-3-phosphat-lyase (EC 4.1.2.13); Succinatdehydrogenase = Succinat: (Acceptor) Oxydoreduktase (EC 1.3.99.1); Glucose-6-phosphatase = D-Glucose-6-phosphat Phosphohydrolase (EC 3.1.3.9).

anodischen Fraktionen, die nahe an der Startlinie liegen auf ein Mehrfaches an. In einigen Fällen (Abb. 1 b und d) erscheint vor der einen der veränderten anodischen Fraktionen eine neue, ebenfalls sehr intensive Fraktion. Nach ihrer elektrophoretischen Beweglichkeit sind die bei den Versuchstieren veränderten Isoenzymmuster vom Typ der Leber-, „B“-Aldolase.

Die erhöhte Aktivität der Fructose-Phosphat-Aldolase im Serum der Versuchstiere muß vor allem mit dem Enzymaustritt aus den geschädigten Leberzellen erklärt werden. Deshalb ist die Annahme mancher Verfasser (6) kaum wahrscheinlich, daß bei der toxischen Schädigung des Leberparenchyms eine Aktivierung oder Erhöhung der Leberenzym-synthese eintritt. Diese unsere Auffassung wird von den histochemischen

Untersuchungen der Leberaldolase an Ratten, die mit 4-Dimethylaminoazobenzol gefüttert wurden, unterstützt, da wir bei ihnen eine starke Verminderung bis zum vollständigen zentrolobulären Wegfall des Enzyms feststellen konnten (7). Wir fanden auch Zellgruppen, die grobe Formazangranula enthielten. Dies spricht für wesentliche Veränderungen in den mitochondrialen und Zellmembranen, die zu einer größeren Ablagerung des Formazans in der Zeiteinheit führen (7).

Die Verfolgung der Serumaldolase erweist sich als sehr nützlich zur Beurteilung der chronischen Toxizität der kanzerogenen Azofarbstoffe bis zum Auftreten der pathologischen Proliferation in der Leber.

Literatur

1. CHANG, J. P., J. D. SPAIN und A. C. GRIFFIN, *Cancer Res.* 18, 670 (1958). — 2. AISENBERG, A. C., *The Glycolysis and Respiration of Tumors* Academic Press New York and London (1961). — 3. HADJIOLOW, D. C., *Neoplasma* 12, 489 (1965). — 4. HADJIOLOW,

D. C., IX. Intern. Cancer Congress, Abstr. of Papers, Tokyo, 1966. — 5. DIKOW, A. L., *diese Z.* 6, 386 (1968). — 6. KRÖNER, H. und W. STAIB, *diese Z.* 6, 318 (1968). — 7. HADJIOLOW, D. C. und A. L. DIKOW, *Compt. rend. Acad. bulg. Sc.* (1968) (im Druck).

Dr. A. L. Dikow
Boulevard Christo Botew 14
Sofia, Bulgarien